

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTIFICATION OF THE RECORDING  
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and  
Administrative Instructions, Section 422)

To:

HUBER, Bernard  
Truderinger Strasse 246  
D-81825 München  
ALLEMAGNE

<b>Date of mailing</b> (day/month/year) 28 August 1996 (28.08.96)	<b>IMPORTANT NOTIFICATION</b>
<b>Applicant's or agent's file reference</b> K 2316 HU/Wd	
<b>International application No.</b> PCT/DE96/00369	<b>International filing date</b> (day/month/year) 01 March 1996 (01.03.96)

## 1. The following indications appeared on record concerning:

☐ the applicant      ☐ the inventor      ☒ the agent      ☐ the common representative

<b>Name and Address</b> HUBER, Bernard Müller-Boré & Partner Grafinger Strasse 2 D-81671 München Germany	<b>State of Nationality</b>	<b>State of Residence</b>
	<b>Telephone No.</b>	
	<b>Facsimile No.</b>	
	<b>Teleprinter No.</b>	

## 2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person      ☐ the name      ☒ the address      ☐ the nationality      ☐ the residence

<b>Name and Address</b> HUBER, Bernard Truderinger Strasse 246 D-81825 München Germany	<b>State of Nationality</b>	<b>State of Residence</b>
	<b>Telephone No.</b> 089/ 42 72 47 48	
	<b>Facsimile No.</b> 089/ 42 72 47 49	
	<b>Teleprinter No.</b>	

## 3. Further observations, if necessary:

## 4. A copy of this notification has been sent to:

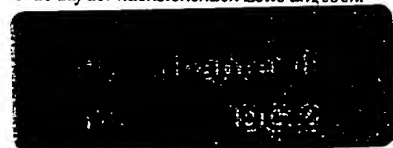
<input checked="" type="checkbox"/> the receiving Office	<input checked="" type="checkbox"/> the designated Offices concerned
<input type="checkbox"/> the International Searching Authority	<input type="checkbox"/> the elected Offices concerned
<input type="checkbox"/> the International Preliminary Examining Authority	<input type="checkbox"/> other:

<b>The International Bureau of WIPO</b> 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland  Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	<b>Authorized officer</b>  G. Bähr  Telephone No.: (41-22) 730.91.11
--	--

Der Antrag ist bei der zuständigen mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde oder, wenn zwei oder mehr Behörden zuständig sind, bei der vom Anmelder gewählten Behörde einzureichen. Der Anmelder kann den Namen oder den Zweibuchstaben-Code der Behörde auf der nachstehenden Zeile angeben.

IPEA/ \_\_\_\_\_

**PCT**



## ANTRAG AUF INTERNATIONALE VORLÄUFIGE PRÜFUNG

nach Artikel 31 des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens:  
Der (die) Unterzeichnete(n) beantragt (beantragen), daß für die nachstehend bezeichnete internationale Anmeldung die internationale vorläufige Prüfung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens durchgeführt wird.

Von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde auszufüllen	
Bezeichnung der IPEA	Eingangsdatum des ANTRAGS

<b>Feld Nr. I KENNZEICHNUNG DER INTERNATIONALEN ANMELDUNG</b>		Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts K 2316 - hu / msl
Internationales Aktenzeichen PCT/DE96/00369	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 01 March 1996 (01.03.96)	(Frühester) Prioritätstag (Tag/Monat/Jahr) 01 March 1995 (01.03.95)
Bezeichnung der Erfindung Antikörper gegen ein, einen Histidin-Anteil aufweisendes Fusionspolypeptid		
<b>Feld Nr. II ANMELDER</b>		
Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)  Deutsches Krebsforschungszentrum Stiftung des öffentlichen Rechts Im Neuenheimer Feld 280 D-69120 Heidelberg		Telefonnr.:  Telefaxnr.:  Fernschreibnr.:
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE	
Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)  Zentgraf, Hanswalter Bluntschlistraße 6 D-69115 Heidelberg		
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE	
Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)  Tessmer, Claudia Höhenstraße 23 D-74869 Schwarzach		
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE	
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Anmelder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.		

## Fortsetzung von Feld Nr. II ANMELDER

*Wird keines der folgenden Felder benutzt, so ist dieses Blatt dem Antrag nicht beizufügen.*

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Velhagen Iris  
Goestraße 14  
D-68723 Schwetzingen

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Schwinn, Susanne  
Robert-Bosch-Straße 14  
D-68766 Hockenheim

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Frey, Manfred  
Lessingstraße 12  
D-68259 Mannheim

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

☐ Weitere Anmelder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.

**Feld Nr. III ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ZUSTELLANSCHRIFT**

- Die folgende Person ist ☒ Anwalt ☐ gemeinsamer Vertreter
- und ☒ ist vom (von den) Anmelder(n) bereits früher bestellt worden und vertritt ihn (sie) auch für die internationale vorläufige Prüfung.
- ☐ wird hiermit bestellt; eine etwaige frühere Bestellung eines Anwalts/gemeinsamen Vertreters wird hiermit widerrufen.
- ☐ wird hiermit zusätzlich zu dem bereits früher bestellten Anwalt/gemeinsamen Vertreter, nur für das Verfahren vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde bestellt.

Name und Anschrift: *(Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)*

Patentanwälte  
Huber & Schübler  
Truderinger Straße 246  
  
81825 München

Telefonnr.:

089/42724748

Telefaxnr.:

089/42724749

Fernschreibnr.:

- ☐ Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben wird.

**Feld Nr. IV ERKLÄRUNG BETREFFEND ÄNDERUNGEN**

Der Anmelder wünscht, daß die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde\*

- i) ☐ die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung aufnimmt.
- ii) ☐ die Änderungen nach Artikel 34
- ☐ der Beschreibung (Änderungen liegen bei)
- ☐ der Ansprüche (Änderungen liegen bei)
- ☐ der Zeichnungen (Änderungen liegen bei)
- berücksichtigt.
- iii) ☐ die beim Internationalen Büro eingereichten Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 berücksichtigt (Kopie liegt bei).
- iv) ☐ die Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 nicht berücksichtigt, sondern als überholt ansieht.
- v) ☐ den Beginn der internationalen vorläufigen Prüfung bis zum Ablauf von 20 Monaten ab dem Prioritätsdatum aufschiebt, sofern die Behörde nicht eine Kopie nach Artikel 19 vorgenommener Änderungen oder eine Erklärung des Anmelders erhält, daß er keine solchen Änderungen vornehmen will (Regel 69.1 d)). *(Dieses Kästchen darf nur angekreuzt werden, wenn die Frist nach Artikel 19 noch nicht abgelaufen ist.)*

\* Wenn kein Kästchen angekreuzt wird, wird mit der internationalen vorläufigen Prüfung auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung begonnen; wenn eine Kopie der Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 und/oder Änderungen der internationalen Anmeldung nach Artikel 34 bei der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde eingeht, bevor diese mit der Erstellung eines schriftlichen Bescheids oder des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts begonnen hat, wird jedoch die geänderte Fassung verwendet.

**Feld Nr. V BENENNUNG VON STAATEN ALS AUSGEWÄHLTE STAATEN**

- ☒ Der Anmelder benennt als ausgewählte Staaten alle auswählbaren Staaten *(das heißt, alle Staaten, die bestimmt wurden und durch Kapitel II des PCT gebunden sind)* ausgenommen .....
- .....
- .....
- (Möchte der Anmelder bestimmte Staaten nicht auswählen, sind die Namen oder Zweibuchstaben-Codes dieser Staaten auf den obenstehenden Zeilen anzugeben.)*

## Feld Nr. VI KONTROLLLISTE

Dem Antrag liegen folgende Unterlagen für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung bei:

- |   |   |         |
|---|---|---------|
| 1. Änderungen nach Artikel 34                         |   |         |
| Beschreibung  | : | Blätter |
| Ansprüche   | : | Blätter |
| Zeichnungen   | : | Blätter |
| 2. Begleitschreiben zu den Änderungen nach Artikel 34 | : | Blätter |
| 3. Kopie der Änderungen nach Artikel 19               | : | Blätter |
| 4. Kopie einer Erklärung nach Artikel 19              | : | Blätter |
| 5. Sonstige (einzeln aufführen) :                     | : | Blätter |

Von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde auszufüllen

erhalten                      nicht erhalten

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Dem Antrag liegen außerdem die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:

- |  |   |
|--|---|
| 1. <input type="checkbox"/> unterzeichnete gesonderte Vollmacht        | 4. <input checked="" type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung |
| 2. <input type="checkbox"/> Kopie der allgemeinen Vollmacht            | 5. <input type="checkbox"/> sonstige (einzeln aufführen):               |
| 3. <input type="checkbox"/> Begründung für das Fehlen der Unterschrift |   |

## Feld Nr. VII UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS, ANWALTS ODER GEMEINSAMEN VERTRETERS

Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.

30 September 1996

Dr. Bernard Huber  
Patentanwalt

Von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde auszufüllen

- |  |   |
|--|---|
| 1. Datum des tatsächlichen Eingangs des ANTRAGS:   |   |
| 2. Geändertes Eingangsdatum des Antrags aufgrund von BERICHTIGUNGEN nach Regel 60.1.b):  |   |
| 3. <input type="checkbox"/> Eingangsdatum des Antrags NACH Ablauf von 19 Monaten ab Prioritätsdatum: Punkt 4 und Punkt 5, unten, finden keine Anwendung.                   | <input type="checkbox"/> Der Anmelder wurde entsprechend unterrichtet |
| 4. <input type="checkbox"/> Eingangsdatum des Antrags INNERHALB 19 Monate ab Prioritätsdatum wegen Fristverlängerung nach Regel 80.5.                                      |   |
| 5. <input type="checkbox"/> Das Eingangsdatum des Antrags liegt nach Ablauf von 19 Monaten ab Prioritätsdatum, der verspätete Eingang ist aber nach Regel 82 ENTSCHULDIGT. |   |

Vom Internationalen Büro auszufüllen

Antrag vom IPEA erhalten am:

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

### INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>K 2316 hu/ms1</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/DE 96/ 00369</b>	Internationales Anmeldedatum ( Tag/Monat/Jahr ) <b>01/03/1996</b>	Prioritätsdatum ( Tag/Monat/Jahr ) <b>01/03/1995</b>
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK <p style="text-align: center;"><b>C07K16/00</b></p>		
Anmelder <b>DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM et al.</b>		

1. Der internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser **BERICHT** umfaßt insgesamt 4 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.  
☒ Außerdem liegen dem Bericht **ANLAGEN** bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT)  
 Diese Anlagen umfassen insgesamt 2 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben und die entsprechenden Seiten zu folgenden Punkten:
  - I ☒ Grundlage des Berichts
  - II ☐ Priorität
  - III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
  - IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
  - V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
  - VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
  - VII ☒ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
  - VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags <b>30/09/1996</b>	Datum der Fertigstellung dieses Berichts <p style="text-align: center;"><b>30.05.97</b></p>
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde <div style="display: flex; align-items: center;"> <div>             Europäisches Patentamt              D-80298 München              Tel. (+49-89) 2399-0, Tx: 523656 epmu d              Fax: (+49-89) 2399-4465           </div> </div>	Bevollmächtigter Bediensteter <div style="display: flex; align-items: center;"> <div> <b>W. Linker</b>              Tel.           </div> </div>

---

I. Grundlage des Berichts

---

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.)

[ ] der internationalen Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung.

[x] der Beschreibung, Seite/n 1-7 \_\_\_\_\_, in der ursprünglich eingereichten Fassung.

Seite/n \_\_\_\_\_, eingereicht mit dem Antrag.

Seite/n \_\_\_\_\_, eingereicht mit Schreiben vom \_\_\_\_\_.

Seite/n \_\_\_\_\_, eingereicht mit Schreiben vom \_\_\_\_\_.

[x] der Ansprüche, Nr. \_\_\_\_\_, in der ursprünglich eingereichten Fassung.

Nr. \_\_\_\_\_, in der nach Artikel 19 geänderten Fassung.

Nr. \_\_\_\_\_, eingereicht mit dem Antrag.

Nr. 1-8 \_\_\_\_\_, eingereicht mit Schreiben vom 11.04.97.

Nr. \_\_\_\_\_, eingereicht mit Schreiben vom \_\_\_\_\_.

[ ] der Zeichnungen, Blatt/Abb. \_\_\_\_\_, in der ursprünglich eingereichten Fassung.

Blatt/Abb. \_\_\_\_\_, eingereicht mit dem Antrag.

Blatt/Abb. \_\_\_\_\_, eingereicht mit Schreiben  
vom \_\_\_\_\_.

Blatt/Abb. \_\_\_\_\_, eingereicht mit Schreiben  
vom \_\_\_\_\_.

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

[ ] Beschreibung: Seite \_\_\_\_\_.

[ ] Ansprüche: Nr. \_\_\_\_\_.

[ ] Zeichnungen: Blatt/Abb. \_\_\_\_\_.

3. [ ] Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2 c)).

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:
-

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erläuterungen zur Stützung dieser Feststellung

1. FESTSTELLUNG

Neuheit	Ansprüche 1-8 _____	JA
	Ansprüche _____	NEIN
Erfinderische Tätigkeit	Ansprüche 1-8 _____	JA
	Ansprüche _____	NEIN
Gewerbliche Anwendbarkeit	Ansprüche 1-8 _____	JA
	Ansprüche _____	NEIN

2. UNTERLAGEN UND ERLÄUTERUNGEN

1. Das folgende im Recherchenbericht zitierte Dokument ist in diesem Bericht berücksichtigt worden:

D1: D.B. EVANS et al. (1992), J. of Immunological Methods 156, 231-238

2. Die Gegenstände der Ansprüche 1-8 sind aus dem ermittelten Stand der Technik weder bekannt, noch werden sie durch ihn nahegelegt. Die beanspruchte Erfindung erfüllt daher die in Artikel 33 (2) und (3) genannten Kriterien.
3. Aus dem nächstliegenden Stand der Technik (D1) sind Antikörper bekannt, die den metallbindenden Peptidanteil (His-Asp-His-Asp-His-) eines Fusionsproteins erkennen. Die beanspruchten Antikörper unterscheiden sich hiervon dadurch, daß sie gegen den 6-18 Histidinreste umfassenden Histidinanteil eines entsprechenden Fusionspolypeptids gerichtet sind. Die erfindungsgemäßen Antikörper können zum Nachweis der Expression von Histidin-Fusionspolypeptiden verwendet werden.



VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

---

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:

## 1. Die Dokumente:

A.G. CAMPBELL AND D.S. RAY (1993), Proc. Natl. Acad.

Sci. USA 90, 9350-9354

T.J. PEDERSEN AND L. HANLEY-BOWDOIN (1994),

Virology 202, 1070-1075

A.H. PATEL AND J.B. MACLEAN (1995),

Virology 206, 465-478

D.B. EVANS et al. (1992), J. of Immunological

Methods 156, 231-238

wurden in der Beschreibung nicht angegeben; auch der darin enthaltene einschlägige Stand der Technik wurde nicht kurz umrissen. Die Erfordernisse der Regel 5.1(a)(ii) PCT sind somit nicht erfüllt.

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT  
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

REC'D 03 JUN 1997

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT PCT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>K 2316 hu/ms1</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/DE 96/ 00369</b>	Internationales Anmeldedatum ( Tag/Monat/Jahr ) <b>01/03/1996</b>	Prioritätsdatum ( Tag/Monat/Jahr ) <b>01/03/1995</b>
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK <b>C07K16/00</b>		
Anmelder <b>DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM et al.</b>		

1. Der internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.


2. Dieser **BERICHT** umfaßt insgesamt 4 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

☒ Außerdem liegen dem Bericht **ANLAGEN** bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT)

Diese Anlagen umfassen insgesamt 2 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben und die entsprechenden Seiten zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☒ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags <b>30/09/1996</b>	Datum der Fertigstellung dieses Berichts <b>30.05.97</b>
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. (+49-89) 2399-0, Tx: 523656 epmu d Fax: (+49-89) 2399-4465	Bevollmächtigter Bediensteter <b>W. Linker W. Linker</b> Tel.

---

I. Grundlage des Berichts

---

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.)

☐ der internationalen Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung.

☒ der Beschreibung, Seite/n 1-7 \_\_\_\_\_, in der ursprünglich eingereichten Fassung.

Seite/n \_\_\_\_\_, eingereicht mit dem Antrag.

Seite/n \_\_\_\_\_, eingereicht mit Schreiben von \_\_\_\_\_.

Seite/n \_\_\_\_\_, eingereicht mit Schreiben von \_\_\_\_\_.

☒ der Ansprüche, Nr. \_\_\_\_\_, in der ursprünglich eingereichten Fassung.

Nr. \_\_\_\_\_, in der nach Artikel 19 geänderten Fassung.

Nr. \_\_\_\_\_, eingereicht mit dem Antrag.

Nr. 1-8 \_\_\_\_\_, eingereicht mit Schreiben vom 11.04.97.

Nr. \_\_\_\_\_, eingereicht mit Schreiben vom \_\_\_\_\_.

☐ der Zeichnungen, Blatt/Abb. \_\_\_\_\_, in der ursprünglich eingereichten Fassung.

Blatt/Abb. \_\_\_\_\_, eingereicht mit dem Antrag.

Blatt/Abb. \_\_\_\_\_, eingereicht mit Schreiben  
vom \_\_\_\_\_.

Blatt/Abb. \_\_\_\_\_, eingereicht mit Schreiben  
vom \_\_\_\_\_.

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

☐ Beschreibung: Seite \_\_\_\_\_.

☐ Ansprüche: Nr. \_\_\_\_\_.

☐ Zeichnungen: Blatt/Abb. \_\_\_\_\_.

3. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2 c)).

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:
-

---

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erläuterungen zur Stützung dieser Feststellung

---

1. FESTSTELLUNG

Neuheit	Ansprüche 1-8 _____	JA
	Ansprüche _____	NEIN
Erfinderische Tätigkeit	Ansprüche 1-8 _____	JA
	Ansprüche _____	NEIN
Gewerbliche Anwendbarkeit	Ansprüche 1-8 _____	JA
	Ansprüche _____	NEIN

---

2. UNTERLAGEN UND ERLÄUTERUNGEN

1. Das folgende im Recherchenbericht zitierte Dokument ist in diesem Bericht berücksichtigt worden:

D1: D.B. EVANS et al. (1992), J. of Immunological Methods 156, 231-238

2. Die Gegenstände der Ansprüche 1-8 sind aus dem ermittelten Stand der Technik weder bekannt, noch werden sie durch ihn nahegelegt. Die beanspruchte Erfindung erfüllt daher die in Artikel 33 (2) und (3) genannten Kriterien.
3. Aus dem nächstliegenden Stand der Technik (D1) sind Antikörper bekannt, die den metallbindenden Peptidanteil (His-Asp-His-Asp-His-) eines Fusionsproteins erkennen. Die beanspruchten Antikörper unterscheiden sich hiervon dadurch, daß sie gegen den 6-18 Histidinreste umfassenden Histidinanteil eines entsprechenden Fusionspolypeptids gerichtet sind. Die erfindungsgemäßen Antikörper können zum Nachweis der Expression von Histidin-Fusionspolypeptiden verwendet werden.
-

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

---

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:

## 1. Die Dokumente:

A.G. CAMPBELL AND D.S. RAY (1993), Proc. Natl. Acad.  
Sci. USA 90, 9350-9354

T.J. PEDERSEN AND L. HANLEY-BOWDOIN (1994),  
Virology 202, 1070-1075

A.H. PATEL AND J.B. MACLEAN (1995),  
Virology 206, 465-478

D.B. EVANS et al. (1992), J. of Immunological  
Methods 156, 231-238

wurden in der Beschreibung nicht angegeben; auch der  
darin enthaltene einschlägige Stand der Technik wurde  
nicht kurz umrissen. Die Erfordernisse der Regel  
5.1(a)(ii) PCT sind somit nicht erfüllt.

K 2316

### Patentansprüche

1. Antikörper gegen ein, einen Histidin-Anteil aufweisendes Fusionspolypeptid, wobei der Antikörper gegen den Histidin-Anteil gerichtet ist und dieser 6-18 Histidinreste umfaßt.
2. Antikörper nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß er polyklonal ist.
3. Antikörper nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß er monoklonal ist.
4. Antikörper nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß er bei der DSM unter ACC 2207 hinterlegt ist.
5. Verfahren zur Herstellung eines Antikörpers nach einem der Ansprüche 1-4, dadurch gekennzeichnet, daß ein Tier mit einem Histidin-Fusionspolypeptid immunisiert wird, und
  - (a) polyklonale Antikörper aus dem Serum des Tieres erhalten werden, oder
  - (b) monoklonale Antikörper nach Fusion von Milzzellen des Tieres mit Myelomzellen erhalten werden.
6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß ein Gemisch von Histidin-Fusionspolypeptiden zur Immunisierung eingesetzt wird.
7. Verwendung eines Antikörpers nach einem der Ansprüche 1-4 in einem Nachweisverfahren für ein, einen Histidin-Anteil aufweisendes Fusionspolypeptid.
8. Verwendung nach Anspruch 7, wobei das Nachweisverfahren ein Western-

Blot, ein ELISA, eine Immunfluoreszenz oder eine Immunpräzipitation ist.

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION CONCERNING  
DOCUMENT TRANSMITTED

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

United States Patent and Trademark  
Office  
(Box PCT)  
Crystal Plaza 2  
Washington, DC 20231  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year)

10 December 1997 (10.12.97)

International application No.

PCT/DE96/00369

International filing date (day/month/year)

01 March 1996 (01.03.96)

Applicant

DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG DES ÖFFENTLICHEN RECHTS et al

The International Bureau transmits herewith the following documents and number thereof:

\_\_\_\_\_ copy of the English translation of the international preliminary examination report (Article 36(3)(a))

The International Bureau of WIPO  
34, chemin des Colombettes  
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

F. Zotomayor

Telephone No.: (41-22) 338.83.38



# TRANSLATION PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

### INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

4,

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference <b>K 2316 hu/ms1</b>	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. <b>PCT/DE 96/00369</b>	International filing date (day/month/year) <b>01.03.1996</b>	Priority date (day/month/year) <b>01.03.1995</b>
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC  <b>C07K16/00</b>		
Applicant <b>DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM et al.</b>		

1.	This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2.	This REPORT consists of a total of <u>4</u> sheets, including this cover sheet.  <div style="display: flex; align-items: flex-start;"> <div style="margin-right: 10px;"><input checked="" type="checkbox"/></div> <div>                     This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).                       These annexes consist of a total of <u>2</u> sheets.                 </div> </div>
3.	This report contains indications relating to the following items: <ul style="list-style-type: none"> <li>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</li> <li>II <input type="checkbox"/> Priority</li> <li>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</li> <li>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of the invention</li> <li>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability: citations and explanations supporting such statement</li> <li>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</li> <li>VII <input checked="" type="checkbox"/> Certain defects in the international application</li> <li>VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application</li> </ul>

Date of submission of the demand  <b>30.09.1996</b>	Date of completion of this report  <b>30.05.1997</b>
Name and mailing address of the IPEA/ EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No

PCT/DE96/00369

## 1. Basis of the report

This report has been drawn on the basis of: *Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description. pages 1-7 . as originally filed.  
 pages \_\_\_\_\_ . filed with the demand.  
 pages \_\_\_\_\_ . filed with the letter of \_\_\_\_\_  
 pages \_\_\_\_\_ . filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☒ the claims. Nos. \_\_\_\_\_ . as originally filed.  
 Nos. \_\_\_\_\_ . as amended under Article 19.  
 Nos. \_\_\_\_\_ . filed with the demand.  
 Nos. 1-8 . filed with the letter of 11.04.97  
 Nos. \_\_\_\_\_ . filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings. sheets/fig \_\_\_\_\_ . as originally filed.  
 sheets/fig \_\_\_\_\_ . filed with the demand.  
 sheets/fig \_\_\_\_\_ . filed with the letter of \_\_\_\_\_  
 sheets/fig \_\_\_\_\_ . filed with the letter of \_\_\_\_\_

## 2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description. pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims. Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings. sheets/fig \_\_\_\_\_

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

## 4. Additional observations, if necessary:

**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement****1. Statement**

Novelty (N)	Claims	1 - 8	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1 - 8	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1 - 8	YES
	Claims		NO

**2. Citations and explanations**

1. The following documents cited in the search report has been taken into consideration in this report:

D1: D. B. Evans et al (1992), J. of Immunological Methods 156, 231 - 238

2. The subject matters of claims 1 - 8 are neither known from, nor suggested by, the cited prior art. The claimed invention therefore meets the criteria specified in PCT Article 33(2) and (3).
3. The closest prior art (D1) discloses antibodies which recognize the metal-binding peptide portion (His-Asp-His-Asp-His-) of a fusion protein.  
The claimed antibodies are distinguished from that closest prior art in that they are directed against the histidine portion comprising the 6 - 18 histidine groups of a corresponding fusion polypeptide. The claimed antibodies can be used to detect the expression of histidine fusion polypeptides.

**VII. Certain defects in the international application**

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

1. The description has not cited the documents

A. G. Campbell and D. S. Ray (1993), Proc. Natl.  
Acad. Sci. USA 90, 9350 - 9354

T. J. Pedersen and L. Hanley-Bowdoin (1994),  
Virology 202, 1070 - 1075

A. H. Patel and J. B. MacLean (1995),  
Virology 206, 465 - 478

D. B. Evans et al. (1992), J. of Immunological  
Methods 156, 231 - 238

or briefly outlined the relevant state of the art  
contained therein. The requirements of PCT Rule  
5.1(a)(ii) are therefore not satisfied.

# PCT

## ANTRAG

Der Unterzeichnete beantragt, daß die vorliegende internationale Anmeldung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens behandelt wird.

Vom Anmeldeamt auszufüllen

Internationales Aktenzeichen

Internationales Anmeldedatum

Name des Anmeldeamts und "PCT International Application"

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts (falls gewünscht)  
(max. 12 Zeichen) K 2316 HU/Wd

### Feld Nr. I BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG

Antikörper gegen ein, einen Histidin-Anteil aufweisendes Fusionspolypeptid

### Feld Nr. II ANMELDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Deutsches Krebsforschungszentrum  
Stiftung des öffentlichen Rechts  
Im Neuenheimer Feld 280  
69120 Heidelberg

☐ Diese Person ist gleichzeitig Erfinder

Telefonnr.:

Telefaxnr.:

Fernschreibnr.:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☒ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

### Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

ZENTGRAF, Hanswalter  
Bluntschlistr. 6  
69115 Heidelberg

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☒ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

☒ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.

### Feld Nr. IV ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ZUSTELLANSCHRIFT

Die folgende Person wird hiermit bestellt/ist bestellt worden, um für den (die) Anmelder vor den zuständigen internationalen Behörden in folgender Eigenschaft zu handeln als:

☒ Anwalt

☐ gemeinsamer Vertreter

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Dr. Bernard Huber  
Grafinger Str. 2  
D-81671 München

Telefonnr.:

089/490570

Telefaxnr.:

089/45067450

Fernschreibnr.:

☐ Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben ist.

**Fortsetzung von Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER**

*Wird keines der folgenden Felder benutzt, so ist dieses Blatt dem Antrag nicht beizufügen.*

Name und Anschrift: *(Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben)*

TESSMER, Claudia  
Höhenstr. 23  
74869 Schwarzach

Diese Person ist:

- ☐ nur Anmelder
- ☒ Anmelder und Erfinder
- ☐ nur Erfinder *(Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)*

Staatsangehörigkeit (Staat): DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

- ☐ alle Bestimmungsstaaten ☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika ☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika ☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: *(Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben)*

VELHAGEN, Iris  
Goestr. 14  
68723 Schwetzingen

Diese Person ist:

- ☐ nur Anmelder
- ☒ Anmelder und Erfinder
- ☐ nur Erfinder *(Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)*

Staatsangehörigkeit (Staat): DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

- ☐ alle Bestimmungsstaaten ☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika ☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika ☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: *(Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben)*

SCHWINN, Susanne  
Robert-Bosch-Str. 14  
68766 Hockenheim

Diese Person ist:

- ☐ nur Anmelder
- ☒ Anmelder und Erfinder
- ☐ nur Erfinder *(Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)*

Staatsangehörigkeit (Staat): DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

- ☐ alle Bestimmungsstaaten ☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika ☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika ☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: *(Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben)*

FREY, Manfred  
Lessingstr. 12  
68259 Mannheim

Diese Person ist:

- ☐ nur Anmelder
- ☒ Anmelder und Erfinder
- ☐ nur Erfinder *(Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)*

Staatsangehörigkeit (Staat): DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

- ☐ alle Bestimmungsstaaten ☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika ☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika ☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

☐ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.

Feld Nr. V **BESTIMMUNG VON STAATEN**

Die folgenden Bestimmungen nach Regel 4.9 Absatz a werden hiermit vorgenommen (bitte die entsprechenden Kästchen ankreuzen; wenigstens ein Kästchen muß angekreuzt werden):

**Regionales Patent**

- ☐ **AP ARIPO-Patent:** KE Kenia, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SZ Swasiland, UG Uganda und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Harare-Protokolls und des PCT ist
- ☐ **EA Eurasisches Patent:** AZ Aserbaidshan, BY Belarus, KZ Kasachstan, RU Russische Föderation, TJ Tadschikistan, TM Turkmenistan und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Eurasischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☒ **EP Europäisches Patent:** AT Österreich, BE Belgien, CH und LI Schweiz und Liechtenstein, DE Deutschland, DK Dänemark, ES Spanien, FR Frankreich, GB Vereinigtes Königreich, GR Griechenland, IE Irland, IT Italien, LU Luxemburg, MC Monaco, NL Niederlande, PT Portugal, SE Schweden und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Europäischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☐ **OA OAPI-Patent:** BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Zentralafrikanische Republik, CG Kongo, CI Côte d'Ivoire, CM Kamerun, GA Gabun, GN Guinea, ML Mali, MR Mauretanien, NE Niger, SN Senegal, TD Tschad, TG Togo und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat der OAPI und des PCT ist (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben) .....

**Nationales Patent (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben):**

- |   |   |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> AL Albanien                                | <input type="checkbox"/> MD Republik Moldau .....                           |
| <input type="checkbox"/> AM Armenien .....                          | <input type="checkbox"/> MG Madagaskar .....                                |
| <input type="checkbox"/> AT Österreich .....                        | <input type="checkbox"/> MK Die ehemalige jugoslawische Republik            |
| <input type="checkbox"/> AU Australien .....                        | Mazedonien .....  |
| <input type="checkbox"/> AZ Aserbaidshan                            | <input type="checkbox"/> MN Mongolei  |
| <input type="checkbox"/> BB Barbados                                | <input type="checkbox"/> MW Malawi .....                                    |
| <input type="checkbox"/> BG Bulgarien .....                         | <input type="checkbox"/> MX Mexiko .....                                    |
| <input type="checkbox"/> BR Brasilien .....                         | <input type="checkbox"/> NO Norwegen  |
| <input type="checkbox"/> BY Belarus                                 | <input type="checkbox"/> NZ Neuseeland .....                                |
| <input checked="" type="checkbox"/> CA Kanada                       | <input type="checkbox"/> PL Polen .....                                     |
| <input type="checkbox"/> CH und LI Schweiz und Liechtenstein        | <input type="checkbox"/> PT Portugal .....                                  |
| <input type="checkbox"/> CN China .....                             | <input type="checkbox"/> RO Rumänien  |
| <input type="checkbox"/> CZ Tschechische Republik                   | <input type="checkbox"/> RU Russische Föderation .....                      |
| <input type="checkbox"/> DE Deutschland .....                       | <input type="checkbox"/> SD Sudan   |
| <input type="checkbox"/> DK Dänemark .....                          | <input type="checkbox"/> SE Schweden  |
| <input type="checkbox"/> EE Estland .....                           | <input type="checkbox"/> SG Singapur  |
| <input type="checkbox"/> ES Spanien .....                           | <input type="checkbox"/> SI Slowenien .....                                 |
| <input type="checkbox"/> FI Finnland .....                          | <input type="checkbox"/> SK Slowakei .....                                  |
| <input type="checkbox"/> GB Vereinigtes Königreich                  | <input type="checkbox"/> TJ Tadschikistan .....                             |
| <input type="checkbox"/> GE Georgien .....                          | <input type="checkbox"/> TM Turkmenistan .....                              |
| <input type="checkbox"/> HU Ungarn .....                            | <input type="checkbox"/> TR Türkei .....                                    |
| <input type="checkbox"/> IS Island                                  | <input type="checkbox"/> TT Trinidad und Tobago .....                       |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP Japan .....                  | <input type="checkbox"/> UA Ukraine .....                                   |
| <input type="checkbox"/> KE Kenia .....                             | <input type="checkbox"/> UG Uganda .....                                    |
| <input type="checkbox"/> KG Kirgisistan .....                       | <input checked="" type="checkbox"/> US Vereinigte Staaten von Amerika ..... |
| <input type="checkbox"/> KP Demokratische Volksrepublik Korea ..... | .....   |
| <input type="checkbox"/> KR Republik Korea .....                    | <input type="checkbox"/> UZ Usbekistan .....                                |
| <input type="checkbox"/> KZ Kasachstan .....                        | <input type="checkbox"/> VN Vietnam .....                                   |
| <input type="checkbox"/> LK Sri Lanka                               | Kästchen für die Bestimmung von Staaten (für die Zwecke eines               |
| <input type="checkbox"/> LR Liberia                                 | nationalen Patents), die dem PCT nach der Veröffentlichung                  |
| <input type="checkbox"/> LS Lesotho .....                           | dieses Formblatts beigetreten sind:   |
| <input type="checkbox"/> LT Litauen                                 | <input type="checkbox"/> .....  |
| <input type="checkbox"/> LU Luxemburg .....                         | <input type="checkbox"/> .....  |
| <input type="checkbox"/> LV Lettland                                | <input type="checkbox"/> .....  |

Zusätzlich zu den oben genannten Bestimmungen nimmt der Anmelder nach Regel 4.9 Absatz b auch alle anderen nach dem PCT zulässigen Bestimmungen vor mit Ausnahme der Bestimmung von .....

Der Anmelder erklärt, daß diese zusätzlichen Bestimmungen unter dem Vorbehalt einer Bestätigung stehen und jede zusätzliche Bestimmung, die vor Ablauf von 15 Monaten ab dem Prioritätsdatum nicht bestätigt wurde, nach Ablauf dieser Frist als vom Anmelder zurückgenommen gilt. (Die Bestätigung einer Bestimmung erfolgt durch die Einreichung einer Mitteilung, in der diese Bestimmung angegeben wird, und die Zahlung der Bestimmungs- und der Bestätigungsgebühr. Die Bestätigung muß beim Anmeldeamt innerhalb der Frist von 15 Monaten eingehen.)

**Feld Nr. VI PRIORITÄTSANSPRUCH**Weitere Prioritätsansprüche sind im Zusatzfeld angegeben. ☐

Die Priorität der folgenden früheren Anmeldung(en) wird hiermit beansprucht:

Staat (Anmelde- oder Bestimmungsstaat der Anmeldung)	Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)	Aktenzeichen	Anmeldeamt (nur bei regionaler oder internationaler Anmeldung)
(1) Deutschland	1. März 1995	195 07 166.2	
(2)			
(3)			

Dieses Kästchen ankreuzen, wenn die beglaubigte Kopie der früheren Anmeldung von dem Amt ausgestellt werden soll, das für die Zwecke dieser internationalen Anmeldung Anmeldeamt ist (eine Gebühr kann verlangt werden):

☒ Das Anmeldeamt wird hiermit ersucht, eine beglaubigte Abschrift der oben in Zeile(n) 1 bezeichneten früheren Anmeldung(en) zu erstellen und dem Internationalen Büro zu übermitteln.
**Feld Nr. VII INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE**

**Wahl der Internationalen Recherchenbehörde (ISA)** (Sind zwei oder mehr Internationale Recherchenbehörden für die internationale Recherche zuständig, ist der Name der Behörde anzugeben, die die internationale Recherche durchführen soll; Zweibuchstaben-Code genügt):

ISA / EPA

**Frühere Recherche:** Auszufüllen, wenn eine Recherche (internationale Recherche, Recherche internationaler Art oder sonstige Recherche) bereits bei der internationalen Recherchenbehörde beantragt oder von ihr durchgeführt worden ist und diese Behörde nun ersucht wird, die internationale Recherche soweit wie möglich auf die Ergebnisse einer solchen früheren Recherche zu stützen. Die Recherche oder der Recherchenantrag ist durch Angabe der betreffenden Anmeldung (bzw. deren Übersetzung) oder des Recherchenantrags zu bezeichnen.

Staat (oder regionales Amt):

Datum (Tag/Monat/Jahr):

Aktenzeichen:

**Feld Nr. VIII KONTROLLISTE**

Diese internationale Anmeldung umfasst:

1. Antrag : 4 Blätter  
 2. Beschreibung : 7 Blätter  
 3. Ansprüche : 1 Blätter  
 4. Zusammenfassung : 1 Blätter  
 5. Zeichnungen : Blätter  
 Insgesamt : 13 Blätter

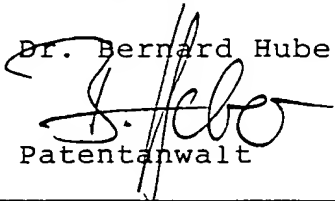
Dieser internationalen Anmeldung liegen die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:

1. ☐ Unterzeichnete gesonderte Vollmacht  
 2. ☐ Kopie der allgemeinen Vollmacht  
 3. ☐ Begründung für das Fehlen der Unterschrift  
 4. ☐ Prioritätsbeleg(e) (durch die Zeilennummer von Feld Nr. VI kennzeichnen):  
 5. ☒ Blatt für die Gebührenberechnung  
 6. ☐ Gesonderte Angaben zu hinterlegten Mikroorganismen  
 7. ☐ Sequenzprotokolle für Nucleotide und/oder Aminosäuren (Diskette)  
 8. ☐ Sonstige (einzeln auflisten):

Abbildung Nr. \_\_\_\_\_ der Zeichnungen (falls vorhanden) soll mit der Zusammenfassung veröffentlicht werden.

**Feld Nr. IX UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS ODER DES ANWALTS**

Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht eindeutig aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.

Dr. Bernard Huber  
  
 Patentanwalt

**Müller-Boré & Partner**

Patentanwälte · European Patent Attorneys  
 Grainger Straße 2 · D-81671 München

Vom Anmeldeamt auszufüllen

1. Datum des tatsächlichen Eingangs dieser internationalen Anmeldung:	2. Zeichnungen <input type="checkbox"/> eingegangen:  <input type="checkbox"/> nicht eingegangen:
3. Geändertes Eingangsdatum aufgrund nachträglich, jedoch fristgerecht eingegangener Unterlagen oder Zeichnungen zur Vervollständigung dieser internationalen Anmeldung:	
4. Datum des fristgerechten Eingangs der angeforderten Richtigstellungen nach Artikel 11(2) PCT:	
5. Vom Anmelder benannte Internationale Recherchenbehörde: ISA /	6. <input type="checkbox"/> Übermittlung des Recherchenexemplars bis zur Zahlung der Recherchegebühr aufgeschoben

Vom Internationalen Büro auszufüllen

Datum des Eingangs des Aktenexemplars beim Internationalen Büro:



VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT  
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts K 2316 HU/Wd	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE96/00369	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 01/03/96	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 01/03/95
Anmelder  DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM et al.		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).
2. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).
3. ☐ In der internationalen Anmeldung ist ein Protokoll einer Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz offenbart; die internationale Recherche wurde auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt,
  - ☐ das zusammen mit der internationalen Anmeldung eingereicht wurde.
  - ☐ das vom Anmelder getrennt von der internationalen Anmeldung vorgelegt wurde,
    - ☐ dem jedoch keine Erklärung beigelegt war, daß der Inhalt des Protokolls nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung in der eingereichten Fassung hinausgeht.
  - ☐ das von der Internationalen Recherchenbehörde in die ordnungsgemäße Form übertragen wurde.
4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung
  - ☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
  - ☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:
5. Hinsichtlich der Zusammenfassung
  - ☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
  - ☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der Feld III angegebenen Fassung von dieser Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Internationalen Recherchenbehörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.
6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen:  
Abb. Nr. \_\_\_\_\_
  - ☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen
  - ☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.
  - ☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.☒ keine der Abb.

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 6 C07K16/00 G01N33/53

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 6 C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, USA, Bd. 90, Oktober 1993, Seiten 9350-9354, XP002004587 CAMPBELL ET AL: "FUNCTIONAL COMPLEMENTATION OF AN ESCHERICHIA COLI RIBONUCLEASE H MUTATION BY A CLONED GENOMIC FRAGMENT FROM THE TRYPA NOSOMATID CRITHIDIA FASCICULATA" siehe Zeite 9350, Zusammenfassung siehe Seite 9351, Absatz 4 - Absatz 6 siehe Seite 9353, Absatz 3</p> <p style="text-align: center;">- / - -</p>	1-8

(E1)



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- \* "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- \* "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- \* "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- \* "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- \* "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\* "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\* "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\* "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\* "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

3. Juni 1996

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

12.06.96

Name und Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Sitch, W

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	VIROLOGY, Bd. 202, 1994, Seiten 1070-1075, XP002004588 PEDERSEN ET AL: "MOLECULAR CHARACTERIZATION OF THE AL3 PROTEIN ENCODED BY A BIPARTITE GEMINIVIRUS" siehe Zeite 1070, Zusammenfassung siehe Seite 1071, Absatz 3 - Absatz 5 ---	1-8 E2
X	VIROLOGY, Bd. 206, Nr. 1, 10. Januar 1995, Seiten 465-478, XP002004589 PATEL ET AL: "THE PRODUCT OF THE UL6 GENE OF HERPES SIMPLEX VIRUS TYPE 1 IS ASSOCIATED WITH VIRUS CAPSIDS" siehe Zeite 465, Zusammenfassung siehe Seite 467, Absatz 2 - Seite 468, Absatz 1 ---	1-8 E3
X	JOURNAL OF IMMUNOLOGICAL METHODS, Bd. 156, 1992, Seiten 231-238, XP002004590 EVANS ET AL: "IMMUNODETECTION OF RECOMBINANT PROTEINS BASED ON ANTIBODIES DIRECTED AGAINST A METAL BINDING PEPTIDE ENGINEERED FOR PURIFICATION BY IMMOBILIZED METAL AFFINITY CHROMATOGRAPHY" siehe Zeite 231, Zusammenfassung ---	1-8 E4
X	WO,A,94 08241 (DEUTSCHES KREBSFORSCH ;ZENTGRAF HANSWALTER (DE); SCHRANZ PETER (DE) 14. April 1994 in der Anmeldung erwähnt siehe Seite 2, Absatz 1 - Absatz 2; Beispiele 1,2 ---	1-8 E5
P,X	DE,A,43 39 533 (DEUTSCHES KREBSFORSCH) 14. Juni 1995 in der Anmeldung erwähnt siehe Seite 2, Zeile 16 - Zeile 25; Beispiele 1,2 ---	1-8 E6
P,X	NUCLEIC ACIDS RESEARCH, Bd. 23, Nr. 16, 25. August 1995, Seiten 3347-3348, XP002004591 ZENTGRAF ET AL: "DETECTION OF HISTIDINE-TAGGED FUSION PROTEINS BY USING A HIGH-SPECIFIC MOUSE MONOCLONAL ANTI-HISTIDINE TAG ANTIBODY" siehe das ganze Dokument ---	1-8 E7
E	DE,C,195 07 166 (DEUTSCHES KREBSFORSCH) 18. April 1996 siehe das ganze Dokument -----	1-8 E8

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

nationales Aktenzeichen

PCT/DE 96/00369

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO-A-9408241	14-04-94	EP-A- 0614531 JP-T- 7501711	14-09-94 23-02-95
DE-A-4339533	14-06-95	DE-A- 4345249 WO-A- 9514233	24-05-95 26-05-95
DE-C-19507166	18-04-96	KEINE	

Claims

1. An antibody against a fusion polypeptide comprising a histidine portion.
2. The antibody according to claim 1, characterized in that it is polyclonal.
3. The antibody according to claim 1, characterized in that it is monoclonal.
4. The antibody according to claim 3, characterized in that it is deposited under ACC 2207 with DSM [German-type culture collection for microorganisms].
5. A process for the preparation of an antibody according to any one of claims 1 to 4, characterized in that an animal is immunized with a histidine fusion polypeptide and
  - (a) polyclonal antibodies are obtained from the serum of the animal, or
  - (b) monoclonal antibodies are obtained after the fusion of animal's spleen cells with myeloma cells.
6. The process according to claim 5, characterized in that a mixture of histidine fusion polypeptides is used for immunization.
7. Use of an antibody according to any one of claims 1 to 4 in a detection method for a fusion polypeptide comprising a histidine portion.
8. Use according to claim 7, wherein the detection method is a Western blot, an ELISA, an immunofluorescence or an immunoprecipitation.

*Replaced by Art 34*

**PCT**WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<b>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> :</b> C07K 16/00, G01N 33/53	<b>A1</b>	<b>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:</b> WO 96/26963 <b>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:</b> 6. September 1996 (06.09.96)
<b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/DE96/00369 <b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 1. März 1996 (01.03.96)  <b>(30) Prioritätsdaten:</b> 195 07 166.2      1. März 1995 (01.03.95)      DE  <b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG DES ÖFFENTLICHEN RECHTS [DE/DE]; Im Neuenheimer Feld 280, D-69120 Heidelberg (DE).  <b>(72) Erfinder; und</b> <b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US):</b> ZENTGRAF, Hanswalter [DE/DE]; Bluntschlistrasse 6, D-69115 Heidelberg (DE). TESSMER, Claudia [DE/DE]; Höhenstrasse 23, D-74869 Schwarzach (DE). VELHAGEN, Iris [DE/DE]; Goestrasse 14, D-68723 Schwetzingen (DE). SCHWINN, Susanne [DE/DE]; Robert-Bosch-Strasse 14, D-68766 Hockenheim (DE). FREY, Manfred [DE/DE]; Lessingstrasse 12, D-68259 Mannheim (DE).  <b>(74) Anwalt:</b> HUBER, Bernard; Grafinger Strasse 2, D-81671 München (DE).		<b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  <b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>
<b>(54) Title:</b> ANTIBODIES ACTIVE AGAINST A FUSION POLYPEPTIDE COMPRISING A HISTIDINE PORTION <b>(54) Bezeichnung:</b> ANTIKÖRPER GEGEN EIN, EINEN HISTIDIN-ANTEIL AUFWEISENDES FUSIONSPOLYPEPTID <b>(57) Abstract</b> <p>The present invention concerns antibodies which are active against a fusion polypeptide comprising a histidine portion, a process for their preparation and their use.</p> <b>(57) Zusammenfassung</b> <p>Die vorliegende Erfindung betrifft Antikörper gegen ein, einen Histidin-Anteil aufweisendes Fusionspolypeptid, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung.</p>		

K 2316 PCT

Deutsches Krebsforschungszentrum  
Stiftung des öffentlichen Rechts  
Im Neuenheimer Feld 280  
61920 Heidelberg

### **Antikörper gegen ein, einen Histidin-Anteil aufweisendes Fusionspolypeptid**

Die vorliegende Erfindung betrifft Antikörper gegen ein, einen Histidin-Anteil aufweisendes Fusionspolypeptid, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung.

Es ist bekannt, ein Polypeptid in Form eines Histidin-Fusionspolypeptids zu exprimieren. In einem solchen liegt ein Histidin-Anteil von z.B. 6-18 aufeinander folgenden Histidinresten fusioniert am C- oder N-Terminus des Polypeptids vor. Damit ist es möglich, das Histidin-Fusionspolypeptid mittels einer Nickel-Chelat-Chromatographiesäule aus dem Überstand oder Zellysat der es exprimierenden Zelle zu isolieren.

Vorstehende Säule ist aber teuer. Ferner bedeutet ihr Einsatz einen großen Zeitaufwand. Daher eignet sie sich nicht zum schnellen Nachweis der Expression eines Histidin-Fusionspolypeptids. Ein solcher Nachweis ist aber von Nöten, insbesondere, wenn er zum Screening vieler Zellen herangezogen werden soll.

Der vorliegenden Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde, ein Mittel bereitzustellen, mit dem die Expression eines Histidin-Fusionspolypeptids schnell nachgewiesen werden kann.

Erfindungsgemäß wird dies durch einen Antikörper erreicht, der gegen ein, einen Histidin-Anteil aufweisendes Fusionspolypeptid gerichtet ist.

Ein solcher Antikörper kann ein polyklonaler oder monoklonaler Antikörper sein, wobei ein monoklonaler Antikörper bevorzugt ist. Der Antikörper kann aus jegli-

chem Tier oder dem Menschen erhalten sein, wobei für einen polyklonalen Antikörper Kaninchen und für einen monoklonalen Mäuse bevorzugt sind.

Ferner kann der Antikörper synthetisch sein, wobei ihm ggfs. Teile, die für vorstehende Erkennung nicht notwendig sind, ganz oder teilweise fehlen bzw. diese Teile durch andere ersetzt sind, die dem Antikörper weitere günstige Eigenschaften verleihen.

Der Ausdruck "Histidin-Anteil aufweisendes Fusionspolypeptid" umfaßt ein Polypeptid (Peptid) jeglicher Art und Länge, das einen Histidin-Anteil aufweist. Ein solches Polypeptid kann von jeglichen Zellen, z.B. Bakterien, Hefen, Insekten-, Pflanzen- und tierischen Zellen, sowie Organismen, z.B. transgenen Tieren, exprimiert sein. Ein vorstehender Histidin-Anteil kann z.B. 6-18, vorzugsweise 6 aufeinander folgende Histidinreste umfassen und fusioniert am N und/oder C-Terminus des Polypeptids vorliegen.

Ein bevorzugter Antikörper der vorliegenden Erfindung, nämlich ein monoklonaler Maus-Antikörper mit vorstehender Erkennung, wurde bei der DSM unter der Nummer ACC 2207 am 15. Febr. 1995 hinterlegt.

Erfindungsgemäße Antikörper können nach üblichen Verfahren hergestellt werden. Sollen polyklonale bzw. monoklonale Antikörper hergestellt werden, ist es günstig, Tiere, insbesondere Kaninchen für erstere und Mäuse für letztere Antikörper, mit einem vorstehenden Histidin-Fusionspolypeptid, z.B. His p53 (vgl. deutsche Patentanmeldung P 42 32 823.3) oder His hdm2 (vgl. deutsche Patentanmeldung P 43 39 553.3), vorzugsweise einem Gemisch aus solchen zu immunisieren. Weiteres Boostern der Tiere kann mit dem oder den gleichen Histidin-Fusionspolypeptiden erfolgen. Auch können andere Histidin-Fusionspolypeptide oder eine Kombination aus diesen und dem oder den vorhergehenden Histidin-Fusionspolypeptiden zum Boostern verwendet werden. Die polyklonalen Antikörper können dann aus dem Serum der Tiere erhalten werden. Für die monoklonalen Antikörper werden Milzzellen der Tiere mit Myelomzellen fusioniert.



Zur Herstellung von synthetischen Antikörpern kann z.B. von vorstehend erhaltenen, monoklonalen Antikörpern ausgegangen werden. Hierzu bietet sich an, die Antigen-Bindungsregionen der monoklonalen Antikörper zu analysieren und die für vorstehende Erkennung notwendigen und nicht notwendigen Teile zu identifizieren. Die notwendigen Teile können dann modifiziert und die nicht notwendigen ganz oder teilweise eliminiert bzw. durch Teile ersetzt werden, die den Antikörpern weitere günstige Eigenschaften verleihen. Auch können Teile außerhalb der Bindungsregionen der Antikörper modifiziert, eliminiert oder ersetzt werden. Der Fachmann weiß, daß sich für vorstehende Maßnahmen insbesondere die DNA-Rekombinationstechnologie eignet. Diese ist ihm bestens vertraut.

Erfindungsgemäße Antikörper zeichnen sich dadurch aus, daß sie beliebige Fusionspolypeptide erkennen, die einen Histidin-Anteil aufweisen. Die Antikörper eignen sich daher zum schnellen Nachweis der Expression solcher Fusionspolypeptide. Dies kann in beliebigen Nachweisverfahren, insbesondere in einem Western Blot, einem ELISA, einer Immunpräzipitation oder einer Immunfluoreszenz, erfolgen. Hierzu können die erfindungsgemäßen Antikörper, wenn es angebracht ist, markiert sein oder in Kombination mit markierten gegen sie gerichteten Antikörpern eingesetzt werden.

Die vorliegende Erfindung wird durch die nachstehenden Beispiele erläutert.

#### **Beispiel 1: Herstellung von monoklonalen Antikörpern**

Zur Immunisierung wurden Mäuse verwendet. Als Antigene wurden His hdm2 (Aminosäure 1-284), His hdm2 (Aminosäure 58-491) und His p53 (Aminosäure 66-393) (vgl. vorstehend) verwendet. Diese waren in einem Puffer aus 8 M Harnstoff, 100 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 10 mM Tris-HCl gelöst.

**Immunisierungs- und Boosterschema:**

Tag 1:        50  $\mu$ l (= 10  $\mu$ g) His hdm2 (Aminosäure 1-284)  
              50  $\mu$ l (= 10  $\mu$ g) His hdm2 (Aminosäure 58-491)  
              50  $\mu$ l PBS (Phosphat-gepufferte Saline)  
              150  $\mu$ l Freund's Adjuvans komplett

-----

300  $\mu$ l Mix

200  $\mu$ l des Mix wurden in eine Maus injiziert

Tag 30:        50  $\mu$ l (= 10  $\mu$ g) His hdm2 (Aminosäure 1-284)  
              50  $\mu$ l (= 10  $\mu$ g) His hdm2 (Aminosäure 58-491)  
              20  $\mu$ l PBS  
              120  $\mu$ l Freund's Adjuvans inkomplett

-----

240  $\mu$ l Mix

200  $\mu$ l des Mix wurden in vorstehende Maus injiziert.

Tag 60:        50  $\mu$ l (= 10  $\mu$ g) His hdm2 (Aminosäure 1-284)  
              50  $\mu$ l (= 10  $\mu$ g) His hdm2 (Aminosäure 58-491)  
              85  $\mu$ l PBS  
              115  $\mu$ l Freund's Adjuvans inkomplett

-----

300  $\mu$ l Mix

200  $\mu$ l des Mix wurden in vorstehende Maus injiziert.

Tag 90: 50  $\mu$ l (= 10  $\mu$ g) His hdm2 (Aminosäure 1-284)  
50  $\mu$ l (= 10  $\mu$ g) His hdm2 (Aminosäure 58-491)  
200  $\mu$ l PBS

---

300  $\mu$ l Mix

200  $\mu$ l des Mix wurden in vorstehende Maus injiziert.

Tag 180: 150  $\mu$ l (= 20  $\mu$ g) His p53 (Aminosäure 66-393)  
150  $\mu$ l Freund's Adjuvans komplett

---

300  $\mu$ l Mix

200  $\mu$ l des Mix wurden in vorstehende Maus injiziert.

Tag 230: 75  $\mu$ l (= 10  $\mu$ g) His p53 (Aminosäure 66-393)  
25  $\mu$ l (= 5  $\mu$ g) His hdm2 (Aminosäure 1-284)  
25  $\mu$ l (= 5  $\mu$ g) His hdm2 (Aminosäure 58-491)  
125  $\mu$ l Freund's Adjuvans inkomplett

---

250  $\mu$ l Mix

200  $\mu$ l des Mix wurden in vorstehende Maus injiziert.

Tag 260: 75  $\mu$ l (= 10  $\mu$ g) His p53 (Aminosäure 66-393)  
25  $\mu$ l (= 5  $\mu$ g) His hdm 2 (Aminosäure 1-284)  
25  $\mu$ l (= 5  $\mu$ g) His hdm 2 (Aminosäure 58-491)  
125  $\mu$ l PBS

---

250  $\mu$ l Mix

200  $\mu$ l des Mix wurden in vorstehende Maus injiziert.

Am Tag 262 wurde die Maus getötet. Milzzellen wurden ihr entnommen und mit Myelomzellen fusioniert. Es wurden monoklonale Antikörper erhalten. Einer dieser wurde bei der DSM unter ACC 2207 am 15. Febr. 1995 hinterlegt.

### **Beispiel 2: Herstellung von polyklonalen Antikörpern**

Zur Immunisierung wurden Kaninchen verwendet. Es wurden die Antigene von Beispiel 1 verwendet. Das Immunisierungs- und Boosterschema war identisch mit jenem von Beispiel 1 bis einschließlich Tag 90.

Tag 92: Aus der Ohrvene des Kaninchens wurden 5 ml Blut entnommen und in einem ELISA bzw. Western-Blot auf Antikörper-Aktivität getestet.

Tag 93: Nach positivem Test am Tag 92, wurden die Tiere getötet und die Antikörper aus dem Serum gewonnen.

### **Beispiel 3: Nachweis von Histidin-Fusionspolypeptiden durch erfindungsgemäße Antikörper**

#### **(a) Western-Blot**

Histidin-Fusionspolypeptide, nämlich His hdm2 (Aminosäure 1-284), His hdm2 (Aminosäure 58-491) und His p53 (Aminosäure 66-393) von Beispiel 1, sowie die Polypeptide hdm2 (Aminosäure 1-284), WAF 1 (= wildtyp aktivierender Faktor) und t16 (= zell. regulierendes Protein) als Kontrolle wurden einer Polyacrylamid-Gelelektrophorese unterzogen. Das Gel wurde über Nacht auf eine Nitrocellulosemembran übertragen. Diese wurde dann mit vorstehendem, 1:10 bzw. 1:50 verdünnten Antikörper ACC 2207 1 Std. bei 37°C inkubiert. Nach mehreren Waschschritten mit PBS (0,05 % Tween 20) wurde ein käuflicher alkalischer Phosphatase-gekoppelter Ziege-anti-Maus-Antikörper (Verdünnung nach Angabe

der Hersteller) zugegeben. Nach 30-minütiger Inkubation bei 37°C folgten mehrere Waschschrirte mit PBS und anschließend die alkalische Phosphatase-Nachweisreaktion mit alkalischer Phosphatase mit Entwicklerlösung (36  $\mu$ M 5'-Bromo-4-chloro-3-indolylphosphat, 400  $\mu$ M Nitroblau-tetrazolium, 100 mM Tris-HCl, pH 9.5, 100 mM NaCl, 5 mM MgCl<sub>2</sub>) bei Raumtemperatur bis Banden sichtbar waren.

Es zeigte sich, daß der erfindungsgemäße Antikörper ACC 2207 spezifisch Histidin-Fusionspolypeptide, nicht aber Polypeptide ohne Histidin-Anteil erkennt.

#### (b) ELISA

In eine 96-Loch-Platte wurden pro Loch je 100  $\mu$ l mit 20 ng bzw. 8 ng der Histidin-Fusionspolypeptide bzw. der Kontrollen von (a) einpipettiert. Nach Inkubation über Nacht bei 4°C schlossen sich 3 kurze Waschschrirte mit PBS an. Anschließend erfolgte die Blockierung freier Bindungsstellen des polymeren Trägers durch einstündige Inkubation mit 1 % BSA in PBS bei 37°C. Der erfindungsgemäße, 1:10 bzw. 1:50 verdünnte Antikörper ACC 2207 wurde 1 Stunde bei 37°C auf der Platte inkubiert. Nach 8 Waschschrirten mit PBS wurde der Peroxidase-gekoppelte Ziege anti-Maus Antikörper von (a) zugegeben. Nach 30-minütiger Inkubation bei 37°C folgten 8 Waschschrirte und anschließend die Peroxidase-Nachweisreaktion mit Entwicklungslösung (50 mM Natriumacetat, 0,4 mM 3,3', 5,5'-Tetramethylbenzidin-dihydrochlorid, 4,4 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) bei Raumtemperatur bis Banden sichtbar waren.

Es zeigte sich, daß der erfindungsgemäße Antikörper ACC 2207 spezifisch Histidin-Fusionspolypeptide, nicht aber ein Polypeptid ohne Histidin-Anteil erkennt.

K 2316

**Patentansprüche**

1. Antikörper gegen ein, einen Histidin-Anteil aufweisendes Fusionspolypeptid.
2. Antikörper nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß er polyklonal ist.
3. Antikörper nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß er monoklonal ist.
4. Antikörper nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß er bei der DSM unter ACC 2207 hinterlegt ist.
5. Verfahren zur Herstellung eines Antikörpers nach einem der Ansprüche 1-4, dadurch gekennzeichnet, daß ein Tier mit einem Histidin-Fusionspolypeptid immunisiert wird, und
  - (a) polyklonale Antikörper aus dem Serum des Tieres erhalten werden, oder
  - (b) monoklonale Antikörper nach Fusion von Milzzellen des Tieres mit Myelomzellen erhalten werden.
6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß ein Gemisch von Histidin-Fusionspolypeptiden zur Immunisierung eingesetzt wird.
7. Verwendung eines Antikörpers nach einem der Ansprüche 1-4 in einem Nachweisverfahren für ein, einen Histidin-Anteil aufweisendes Fusionspolypeptid.
8. Verwendung nach Anspruch 7, wobei das Nachweisverfahren ein Western-Blot, ein ELISA, eine Immunfluoreszenz oder eine Immunpräzipitation ist.

K 2316

### **Zusammenfassung**

**Antikörper gegen ein, einen Histidin-Anteil aufweisendes Fusionspolypeptid**

Die vorliegende Erfindung betrifft Antikörper gegen ein, einen Histidin-Anteil aufweisendes Fusionspolypeptid, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung.

K 2316

### Patentansprüche

1. Antikörper gegen ein, einen Histidin-Anteil aufweisendes Fusionspolypeptid, wobei der Antikörper gegen den Histidin-Anteil gerichtet ist und dieser 6-18 Histidinreste umfaßt.
2. Antikörper nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß er polyklonal ist.
3. Antikörper nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß er monoklonal ist.
4. Antikörper nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß er bei der DSM unter ACC 2207 hinterlegt ist.
5. Verfahren zur Herstellung eines Antikörpers nach einem der Ansprüche 1-4, dadurch gekennzeichnet, daß ein Tier mit einem Histidin-Fusionspolypeptid immunisiert wird, und
  - (a) polyklonale Antikörper aus dem Serum des Tieres erhalten werden, oder
  - (b) monoklonale Antikörper nach Fusion von Milzzellen des Tieres mit Myelomzellen erhalten werden.
6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß ein Gemisch von Histidin-Fusionspolypeptiden zur Immunisierung eingesetzt wird.
7. Verwendung eines Antikörpers nach einem der Ansprüche 1-4 in einem Nachweisverfahren für ein, einen Histidin-Anteil aufweisendes Fusionspolypeptid.
8. Verwendung nach Anspruch 7, wobei das Nachweisverfahren ein Western-



Blot, ein ELISA, eine Immunfluoreszenz oder eine Immunpräzipitation ist.